

## **Oponentský posudek disertační práce Ing. Šárky Techlovské : „Glutamatergní nervový přenos, cílení komponent metabotropního glutamátového receptoru v rámci neuronů.“**

Oponent: Prof. Ing. Martin Fusek, CSc.

Předmětem studia Ing. Techlovské byly s G-proteiny spojené receptory lokalizované v nervových buňkách a specificky - metabotropní glutamátový receptor 1, jeho strukturně funkční charakteristiky a kanabinoidní receptor a jeho interakce s proteinem SGIP1. Uvedená problematika patří nepochybně k velmi aktuálním a závažným vědeckým problémům a studium transportu uvedených receptorů má nesmírnou důležitost jak pro pochopení fyziologických procesů, tak pro budoucí využití v léčbě závažných nervových onemocnění. Ve své práci disertantka použila celou paletu moderních experimentálních technik. Ing. Šárka Techlovská také do hloubky prostudovala dostupnou literaturu. Výsledky své práce publikovala ve dvou odborných článcích.

Předkládaná disertační práce je vypracována v rozsahu 149 stran včetně citované literatury. Autorka cituje více než 370 literárních zdrojů.

### *Cíle disertační práce*

Jak je uvedeno na straně 9, disertační práce se zaměřuje na detailní studium jednoho s G-proteiny spojených receptorů, konkrétně metabotropního glutamátového receptoru 1. Hlavním cílem bylo objasnění vztahu struktury a funkce isoform podjednotek tohoto receptoru a jejich vliv na interakci s dalšími proteiny a na transport receptoru uvnitř buňky. Dále práce zahrnuje experimenty prokazující interakci mezi dalším s G-proteinem spojeným receptorem – canabinoidním receptorem 1 a nově objeveným proteinem SGIP1. Obě problematiky jsou provázány studiem vlivu struktury a interakčních partnerů na povrchovou expresi a internalizaci těchto receptorů.

### *Formální úprava*

Disertantka se držela klasického zpracování disertace a přehledně a logicky rozdělila text. Uvedla rozsáhlý výčet použitých materiálů a přístrojů a zpracovala přehled použitých zkratk, který pomáhá v orientaci v textu. Občasné překlepy nejsou na závadu kvality textu a jsou v rozsahu disertační práce zcela akceptovatelné.

### *Teoretická část*

Ing. Techlovská věnovala teoretické části velikou pozornost a prostor. Teoretická část je uvedena na 57 stranách textu a je doprovázena celou řadou ilustračních obrázků. Velmi detailně popsala problematiku uvedených receptorů od taxonomie přes strukturu, lokalizaci až po fyziologickou funkci. Zároveň jsou popsány principy jejich signalizace. Vzhledem ke komplexnosti daného oboru lze konstatovat, že se nelehkého úkolu zhostila velmi úspěšně. V textu teoretické části postupovala od obecnějších popisů ke konkrétnímu vlivu struktury na transport a interakce s dalšími proteiny.

### *Experimentální část.*

Experimentální část má 20 stran. Popis metod je přiměřený a ilustrativní. Autorka využila při experimentální práci obdivuhodnou paletu metodik. Experimentální práce zahrnovala metody molekulárně biologické, přípravu a pěstování jak immortalizovaných, tak primárních buněčných kultur, cytochemická, histochemická a mikroskopická stanovení. Díky tomuto širokému přístupu se podařilo nashromáždit velmi solidní experimentální materiál, který je analyzován v dalších částech.

### *Výsledky a diskuze*

Výsledky experimentální práce jsou uvedeny na 25 stranách textu a jsou podloženy kvalitním množstvím dat. Disertantka provedla úctyhodné množství experimentů a výsledky pečlivě vyhodnocovala. Zde bych jen vytknul uvedení anglických popisků u obrázků 15-18, 21, 29 a 30. Jedná se o obrázky převzaté z publikací autorky, ale v českém textu disertace nepůsobí patřičně.

Samotná diskuze výsledků vysvětluje pozorované průkazy heterodimerizace izoformem mGluR1 a přináší popis nově popsané interakce receptoru CB1 s proteinem SGIP. Diskuze je poměrně stručná, ale postihuje hlavní aspekty získaných dat.

### *Celkové hodnocení*

Předložená práce je kvalitním vědeckým materiálem a to jak po stránce teoretických znalostí, tak ve smyslu samotné experimentální a vyhodnocovací části. Disertantka zjevně splnila cíle práce a získala nová data přispívající k našemu pochopení funkce složitého nervového systému. Disertační práce prokazuje předpoklady autorky k samostatné tvořivé vědecké práci. Vzhledem k uvedenému doporučuji disertační práci Ing. Šárky Techlovské k obhajobě.

V Praze dne 3.1.2017

.....

Prof. Ing. Martin Fusek, CSc.

*Rád bych položil následující dotazy:*

1. Jaké mohou být funkční dopady Vámi pozorovaných heterodimerizací mGluR1a/b a tedy jaký je jejich předpokládaný fyziologický význam?
2. Pro mGluR1 byla popsána celá řada alosterických syntetických ligandů. Myslíte si, že vámi popsaná heterodimerizace nabízí nové možnosti ve využití takových ligandů.
3. Dovedete si představit využití interakce receptoru CB1 a proteinu SGIP1 pro regulaci příjmu potravy? Nehrozilo by podobné nebezpečí jako u látky rimonabant?